Bestimmung der Konzentration freier Aminosäuren in Liquor cerebrospinalis und Blutplasma mit einer neuen elutionschromatographischen Methode sowie die Beziehung dieser Werte zueinander

Peter Schabert

1962

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546810_0017

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

Bestimmung der Konzentration freier Aminosäuren in Liquor cerebrospinalis und Blutplasma mit einer neuen elutionschromatographischen Methode sowie die Beziehung dieser Werte zueinander

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Schabert
Riga/Lettland

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

München 1962

A. Schubert, München 5, Corneliusstr. 21 · Telefon 221777

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv. Doz. Dr. H. G. KNAUFF
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. G. BODECHTEL
Dekan:	Prof. Dr. A. HERRMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 10. 1962

Das Konzentrationsverhältnis zwischen freien Liquor- und Blutaminosäuren soll nach Angaben der Literatur (8, 15) etwa 1 : 5 betragen. Für diesen Vergleich mussten jedoch Werte verschiedener Autoren über Liquor- bzw. Plasmaaminosäuren, die mit unterschiedlicher Methodik gewonnen wurden, herangezogen werden. Eine solche Gegenüberstellung ist problematisch, da die Literaturangaben untereinander erheblich differieren. Wir haben die bisherigen Aminosäurewerte für den Liquor cerebrospinalis in Tabelle 1 (17, 26, 35, 36, 44, 53, 61, 67) und die wichtigsten des Plasmas in Tabelle 2 (4, 5, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 27, 39, 43, 51, 52, 58, 59, 66) zusammengestellt.

Beim Liquor stimmen die Werte nur für einige Aminosäuren gut überein, für andere schwanken sie erheblich, besonders für Asparagin, Cystin, Glutaminsäure und Lysin.

So werden neben den auf mikrobiologischem und chromatographischem Wege gewonnenen Werten für einzelne, mit chemisch-analytischen Methoden bestimmte, Aminosäuren wesentlich höhere Werte angegeben, vor allem für Glutamin. HARRIS (13), der als erster das Vorkommen dieses Stoffes im Liquor wahrscheinlich machte, gibt Werte von 50-100 µgr/ml. LUDEWIG (37) fand 73,5 ± 20 µgr/ml. Glutamin und 0-9 µgr/ml. Glutaminsäure. Er untersuchte jedoch fast ausschliesslich pathologische Fälle mit schweren neurologischen Krankheitsbildern. WHITEHEAD und WHITTAKER (70) geben für Glutamin 60-160 µgr/ml. an. GILON und Mitarbeiter (10) fanden bei Normalpersonen 50-220 µgr/ml. Glutamin, bei Fällen von Leberkoma bis zu 960 µgr/ml. Von diesen wohl methodisch bedingten Unterschieden abgesehen kann ein Vergleich von Mittelwerten unterschiedlicher Kollektive an sich nur einen begrenzten Einblick gewähren, zumal bei gleicher Methodik die individuelle Streubreite für einzelne Aminosäuren im Blutplasma oder im Liquor bis zu 100 % beträgt. Insbesondere können mögliche Änderungen der Blut-Liquor-Relation im Einzelfall nicht erkannt werden. So wurde z.B. bei Erkrankungen des Zentralnervensystems, die mit Schrankenstörungen verbunden sind, für verschiedenste Substanzen wiederholt eine Annäherung der Liquorkonzentration an die des Plasmas beschrieben (2, 7, 50). Ob bei Normalfällen oder bei Patienten mit Erkrankungen, die nicht eine gesteigerte Permeabilität der Blut-Liquorschranke zur Folge haben, dagegen ein festes Konzentrationsverhältnis angenommen werden muss, bedarf noch einer genauen Untersuchung.

Die unterschiedlichen Angaben in der Literatur über die freien Aminosäuren im Blute und vor allem im Liquor cerebrospinalis machten daher erneute quantitative Untersuchungen mit exakten Methoden wünschenswert.

In jüngster Zeit wurden von STEIN und MOORE (41, 42) Methoden zur quantitativen Aminosäureanalyse entwickelt, nach denen mit einer bisher unerreichten

Genauigkeit Aminosäuregemische aufgetrennt werden können. Es wurden zunächst ältere elutionschromatographische Verfahren, die durch papierchromatographische Methoden in den Hintergrund gedrängt waren, wieder aufgegriffen und es wurde ein Gerät entwickelt, mit dem an Ionenaustauschersäulen Aminosäure- oder Peptidgemische aufgetrennt werden konnten. SPACKMANN, STEIN und MOORE (54) haben durch weitgehende Automatisierung und Entwicklung feinerer Austauscherharze das Verfahren so vereinfacht, dass innerhalb eines Tages eine vollständige Analyse durchgeführt werden kann. HANNIG (11) hat in Deutschland ein eigenes ebenfalls automatisch arbeitendes Gerät entwickelt. Er untersuchte damit hauptsächlich hydrolysierte Eiweisskörper. Wir konnten es erstmals zur Analyse freier Aminosäuren in biologischen Flüssigkeiten verwenden.

Unsere Aufgabe war es mit exakter Methodik die Konzentration der freien Aminosäuren im Liquor und Blutplasma zu ermitteln.

I. METHODIK

1. VORBEREITUNG DER ZU UNTERSUCHENDEN FLÜSSIGKEITEN

a) Plasma

Zur Bestimmung der freien Aminosäuren im Blute wurden etwa 20 ml Plasma benötigt. Wir fingen daher 40-50 ml Blut aus der vena cubitalis eines nüchternen Patienten in einem mit Thrombocid benetzten Glasgefäss auf. Die Formelemente wurden sofort abzentrifugiert. Das Plasma haben wir mit der vierfachen Menge vorgekühlten Acetons enteiweisst. Der Niederschlag wurde bei 10.000 Umdrehungen/Min. 20 Minuten lang abzentrifugiert und, nachdem der Überstand abpipettiert worden war, mit 1/10 des ursprünglichen Plasmavolumens n/10 HCl aufgerührt und mit der oben genannten Menge Acetons nachgewaschen. Anschliessend wurde der Eiweiss-Salzniederschlag auf die gleiche Weise abzentrifugiert und beide Überstände wurden vereinigt. Das Aceton wurde über einer Brücke im Vakuum ausgetrieben, die verbleibende Lösung zur Entfernung der Lipoide fünfmal mit Äther ausgeschüttelt, danach im Exsikator mit P_2O_5 zur Trockene eingeengt. Den Rückstand nahmen wir mit 1/10 des ursprünglichen Plasmavolumens n/5 HCl auf und bewahrten ihn in einem verschlossenen Reagenzgläschen im Kühlschrank bis zur Analyse auf.

b) Liquor

Das Vorgehen bei der Aufbereitung des Liquors zur Bestimmung der freien Aminosäuren war das gleiche wie das zur Aufbereitung des Blutes. Da der Gehalt der freien Aminosäuren im Liquor gering ist, musste die Ausgangsmenge mindestens 30-40 ml betragen.

2. BESCHREIBUNG DES APPARATES

Die sauren und neutralen Aminosäuren wurden an einer 130 cm langen mit saurem Kationenaustauscher (Dowex 50 x 8) gefüllten Glassäule, deren innerer Durchmesser 9 mm betrug, getrennt. Diese wurde von einem Heizmantel auf konstant 50°C gehalten. Als Elutionsflüssigkeit verwendeten wir saure Citratpuffer (pH 3,1 und pH 5,1), die von zwei Motorspritzen mit konstanter Geschwindigkeit (30 ml/Std) durch die Säule gepumpt wurden. Ein Mischgefäss, das zwischen die Spritzen und die Säule geschaltet war, ermöglichte ein stufenloses Ansteigen des pH. Dem Eluat der Säule wurde eine gepufferte Ninhydrinlösung von einer dritten Spritze, ebenfalls mit konstanter Geschwindigkeit (15 ml/Std) gefördert, in einem T-Rohr zugeführt. Dieses Gemisch durchlief zur Farbentwicklung einen Teflonschlauch in einem siedenden Wasserbad. Die Länge des Schlauches war so bemessen, dass das Gemisch 20 Minuten erhitzt wurde. Anschliessend passierte es die Durchlaufküvette eines Extintionsschreibers, der alle 40 Sekunden bei einer Wellenlänge λ = 578 mμ und λ = 436 mμ einen Extinktionswert auf einen Papierstreifen einstach. Es entstanden so für alle getrennten Aminosäuren gleichzeitig zwei Kurven. Da die Anfärbung fast aller Aminosäuren bei der Wellenlänge λ = 578 mμ ihr Extinktionsmaximum hat, ist auch die mit diesem Filter geschriebene Kurve für sie am grössten und erlaubt die genaueste Auswertung. Lediglich für Prolin und Oxyprolin ist die Wellenlänge λ = 436 mμ geschriebene Kurve grösser.

Zur Trennung der basischen Aminosäuren standen uns zwei Trennsäulen zur Verfügung:

a) eine mit Dowex 50 x 8 gefüllte, 15 cm lange Säule von 9 mm lichter Weite. Mit ihr war eine Trennung von Lysin und Ornithin nicht durchzuführen. Arginin erschien nur als flacher breitbasiger Gipfel, was die Fehlerbreite bei dieser Substanz stark erhöhte.
b) Eine 50 cm lange Säule mit 6 mm innerem Durchmesser, die mit Amberlite IRC 50 gefüllt war.

Wir bedienten uns in beiden Fällen zur Elution eines neutralen Citratpuffers (pH 7) in einer vierten Motorspritze. Die Temperatur betrug während der Analyse bei beiden Säulen ebenfalls 50°C.

3. VORGEHEN BEI DER ANALYSE

Zunächst wurde 0,5-1 ml der zu untersuchenden Substanz mit einer Mikropipette auf die Basensäule aufgetragen. Nachdem die Lösung eingesickert war, wurde dreimal mit 1 ml saurem Citratpuffer (pH 2,2) nachgespült. Anschliessend wurde die vierte Motorspritze mit dem neutralen Citratpuffer angeschlossen und der Apparat in Gang gesetzt. Erst nachdem die neutralen Aminosäuren in den er-

sten 30 Minuten die Säule als einheitliche Fraktion verlassen hatten, wurde dem Eluat Ninhydrin aus der dritten Motorspritze zugeführt. Nach 35 Minuten erschien Histidin als erste basische Aminosäure und nach 4 Stunden Laufzeit Ammoniak und Glutamin gemeinsam als letzte Fraktion.

In der Zwischenzeit wurde die 130 cm lange Säule für die Trennung der sauren und neutralen Aminosäuren auf die gleiche Weise beschickt. Zwei Stunden vor der Beendigung der Basenanalyse begannen wir die Dowexsäule mit einem sauren Puffer (pH 3,1) aus der ersten Motorspritze zu eluieren. Das Eluat wurde zunächst ebenfalls verworfen. Erst nach Abschluss der Basenanalyse wurde diesem Eluat die Ninhydrinlösung der dritten Motorspritze zugeführt. Es erschien dann als erste Fraktion die Cysteinsäure. Fünf Stunden nach dem Anschluss der Dowexsäule, als die Glutaminsäure den Extinktionsschreiber passiert hatte, wurde die erste Motorspritze aus- und die zweite mit dem pH 5,1-Puffer eingekuppelt. Das dazwischen geschaltete Mischgefäss liess das pH langsam stufenlos ansteigen. Von diesem Zeitpunkt an bedurfte der Apparat keiner Wartung mehr, da ihn eine Kontaktuhr 7 Stunden nach dem Pufferwechsel ausschaltete. Die Dowexsäule musste noch am nächsten Tag mit 0,2 n NaOH regeneriert werden und anschliessend durch Spülung mit 3,1 Puffer auf sauren pH gebracht werden. Die erhaltenen Kurven wurden ausgezeichnet und mit einem Präzisionsplanimeter ausplanimetriert. Die Werte berechneten wir mit Hilfe einer eingewogenen Testaminosäuremischung, die wir auf die gleiche Weise getrennt hatten.

5. METHODISCHE ERFAHRUNGEN

In einer Reihe von Versuchen mit eingewogenen Aminosäuren fanden wir, dass die Extinktionswerte bei zunehmender Konzentration linear ansteigen (Abb. 1). Das Lambert-Beer'sche Gesetz ist also in einem für uns ausreichenden Konzentrationsbereich erfüllt. Der Neigungswinkel der Geraden ist durch die unterschiedliche Anfärbbarkeit der einzelnen Aminosäuren bedingt. Voraussetzung ist aber, dass man immer unter streng gleichen Bedingungen arbeitet. pH-Änderungen der Puffer, oder neu hergestellte Ninhydrinlösungen verursachten durch die unterschiedliche Reinheit der Reagentien geringe Schwankungen in der Anfärbung der Aminosäuren. Wir haben daher bei Verwendung einer frischen Ninhydrinlösung, oder bei Variation des pH der Puffer ein Testaminosäuregemisch durchlaufen lassen und seine Werte als Bezugsgrösse für die nachfolgenden Analysen benützt. Die Testaminosäuren wurden so eingewogen und in n/5 HCl gelöst, dass 0,4 ml Testlösung der Konzentration von freien Aminosäuren in 10 ml Plasma entsprach. Abb. 2 zeigt die Kurve einer solchen Testkurve.

Die Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse war gut, die Streubreite der Werte kleiner als bei bisher bekannten Methoden. Bei fünf Bestimmungen des gleichen Testgemisches schwankten die Werte keiner Aminosäure um mehr als $\pm$ 5 % des Mittelwertes.

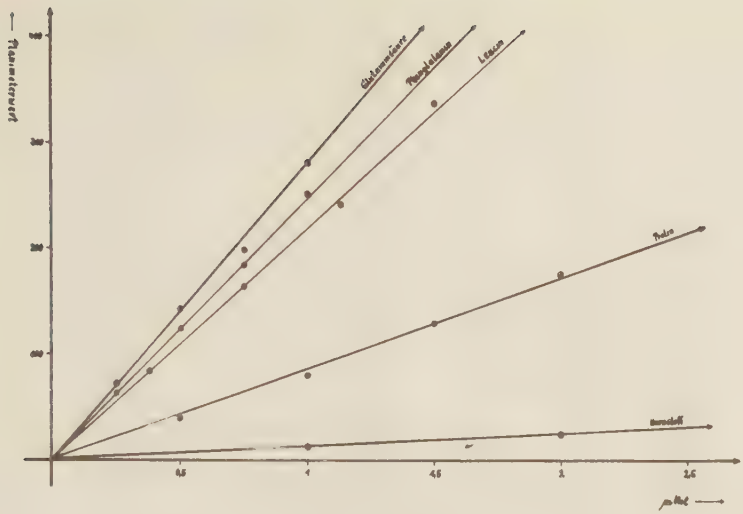

ABBILDUNG 1

Lineares Ansteigen der Extinktionswerte verschiedener Aminosäuren bei steigender Konzentration.

Im allgemeinen war die Basislinie bei der Bestimmung der freien Aminosäuren in physiologischen Flüssigkeiten meist weniger scharf als bei Testsubstanzen. Die Gipfel waren breitbasiger, die Auftrennung nicht so vollkommen. Die Ursache dieses Effektes schieben wir anorganischen Ionen und anderen störenden Bestandteilen dieser Flüssigkeiten zu.

In einer Versuchsreihe wurde Plasma durch Ultrafiltration enteiweisst. Die Analysenkurven dieser Plasmen fielen noch wesentlich breiter aus und ihre Berechnung wurde damit viel ungenauer. Die Ursache dafür lag lediglich im höheren Salzgehalt. Bei der in Kälte durchgeführten Acetonenteiweissung wird nämlich im Gegensatz zur Ultrafiltration bereits ein grosser Teil der Salze mit ausgefällt. Wurde das Ultrafiltrat vor der Analyse nach CONSDEN, GORDON und MARTIN (6) elektrolytisch entsalzt, bekamen wir eine ebenso gleichmässige Basislinie und eine gleich gute Auftrennung wie bei der Chromatographie reiner Aminosäurelösungen. Wir mussten jedoch dieses Verfahren wegen der dabei möglichen Substanzverluste (1, 27) und des zusätzlichen Arbeitsaufwandes aufgeben und nahmen lieber eine minder gute Trennung und Basislinie in Kauf. Ebenso war die Trennung weniger gut, wenn die Ätherausschüttelung unterlassen wurde. Wahrscheinlich störten in diesem Falle Lipoidsubstanzen. Ausserdem bestand hier die Gefahr, dass die Säule nach wenigen Versuchen verunreinigt war.

Trotz dieser Schwierigkeiten war auch bei biologischen Flüssigkeiten die

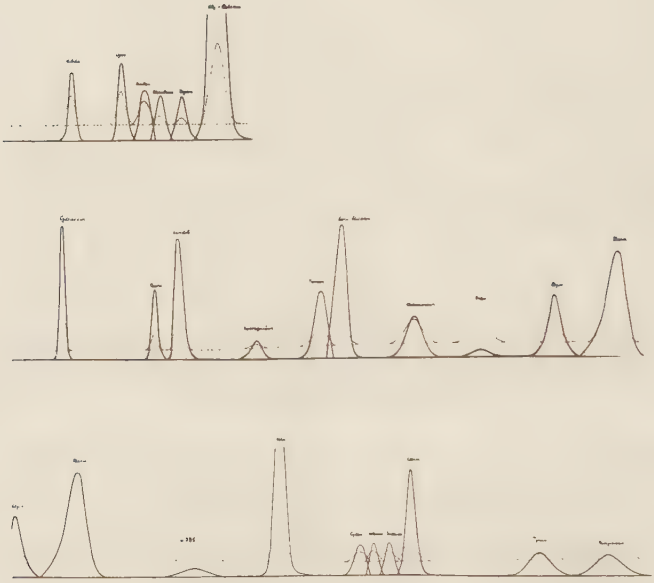

ABBILDUNG 2

Chromatogramm einer Aminosäuretestmischung
(Korrektur: der Gipfel des Methionin ist irrtümlich mit Cystein, der von Alloisoleucin mit Methionin beschriftet worden.)

Fehlerbreite noch ziemlich gering. Wir haben 80 ml Blut einer gesunden Versuchsperson aufgearbeitet und darin die sauren und neutralen Aminosäuren, Harnstoff und Taurin viermal hintereinander bestimmt. Die erhaltenen Werte sind in Tab.3 zusammengefasst. Abgesehen von Glutamin, das teilweise am Austauscher zerstört wird, und von Harnstoff, der sich mit Ninhydrin schlecht färbt, wurden Werte erhalten, die nahe beieinander lagen. Jedoch erhielten wir für keine Substanz gleich günstige Werte, wie bei der Chromatographie von Testaminosäuren.

Aminosäuren	I	II	III	IV	V
Alanin	27,2	28,5	27,0	27,0	3
Glutamin	48,2	56,1	44,6	42,9	17
Glutaminsäure	7,6	7,9	8,0	7,7	3
Harnstoff	252,2	213,1	258,5	237,1	11
Isoleucin	8,1	8,5	8,2	8,3	2
Leucin	20,2	20,5	19,7	20,5	2
Methionin	3,2	3,4	3,2	3,0	6
Phenylalanin	9,6	10,7	10,2	9,7	6
Prolin	20,3	20,2	19,2	19,2	3
Serin	9,2	8,9	8,4	8,6	5
Taurin	7,2	6,3	7,1	7,1	9
Threonin	13,8	13,4	12,6	13,0	5
Tyrosin	10,6	11,2	10,5	9,9	7
Valin	22,7	24,9	22,3	22,3	8

TABELLE 3

Aminosäurewerte bei viermaliger Analyse des gleichen Blutplasmas. Spalte I-IV: Werte in µgr/ml bei den einzelnen Analysen. Spalte V maximale Abweichung vom Mittelwert in Prozent.

II. MATERIAL

Es wurden insgesamt über 40 Plasmen von Patienten der II. Medizinischen Klinik München untersucht. In der Gruppe der "Normalpersonen" wurden auch Patienten mit leichten internistischen und neurologischen Erkrankungen (Gastritis, Ulcus, Asthma, kompensierte Herzvitien, Rekonvaleszenten u.a.) einbezogen. Lediglich solche Personen wurden ausgeschlossen, die an endokrinen oder Stoffwechselkrankheiten litten, oder bei denen die in der Klinik üblichen blutchemischen Untersuchungen (BKS, Elektrophorese, Serumlabilitätsreaktion, Refraktometerwert usw.) deutlich pathologisch ausfielen.

30 Liquores wurden von uns untersucht. Sämtliche bis auf einen wurden durch Lumbalpunktion entnommen (Fall 13 aus Tab.4 wurde suboccipital punktiert). Eine grosse Zahl weiterer Fälle musste ausgeschieden werden, weil bei der Aufarbeitung der Liquores oder bei der Durchführung der Versuche technische Mängel auftraten, die die Ergebnisse beeinflussen könnten. Tab.4 gibt eine Übersicht über Alter, Geschlecht, klinische Diagnose, Liquorbefund, Luftencephalogramm und EEG der Patienten. Die Fälle 1-20 hatten bei den üblichen klinischen Liquoruntersuchungen (Zellzahl, Pandy, Kafka, Mastixkurve) einen normalen Liquorbefund. Bei den übrigen Fällen (21-30) fanden sich pathologische Veränderungen. Als pathologisch wurde dabei eine Zellzahl über 12/3 Zellen, eine Eiweissvermehrung

über 1,2 Teilstriche nach Kafka, oder Veränderungen in der Mastixkurve gewertet. Die Grenze zwischen normal und pathologisch ist vor allem bei der Zellzahl schwierig zu ziehen. Liquores mit Zellzahlen bis 12/3 haben wir bei Fehlen einer Eiweissvermehrung und bei normaler Mastixkurve noch als normal gewertet, da bei einigen Fällen kurze Zeit vor der Luftencephalographie, von der wir den Liquor bekamen, eine diagnostische Lumbalpunktion durchgeführt wurde. Diese allein kann schon eine leichte Pleocytose verursachen.

Simultanuntersuchungen von Liquor und Plasma wurden bei insgesamt 14 Patienten durchgeführt. Es handelt sich um die in Tab.4 mit den Nummern 1,2,3,5, 8,11,16,17,24,25,26 und 30 bezeichneten Fälle. Bei einem Patienten (S.G.) konnte die Bestimmung nach 2 Monaten wiederholt werden.

III. ERGEBNISSE

Abb.3 zeigt die Extinktionskurve der freien Aminosäuren von 10 ml Blutplasma einer gesunden Versuchsperson. Man erkennt insgesamt 24 Gipfel. Der Gipfel 13 enthält 2 Aminosäuren, Glutamin und Serin, die sich beim verwendeten Austauscher schlecht trennen lassen. Zwei Gipfel werden durch unidentifizierte Substanzen verursacht, welche auch nicht regelmässig vorkamen, die übrigen durch Alanin, Arginin, Asparaginsäure, α-Aminobuttersäure, Cysteinsäure, Glutamin, Glutaminsäure, Glycin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tyrosin, Valin,Taurin und Harnstoff und durch einen gemeinsamen Gipfel für NH_3 + Glutamin. Die resultierenden Werte über die Aminosäuren bei 20 stoffwechselgesunden nüchternen Versuchspersonen sind in Tab.3 zusammengefasst.

Im Liquor wurden 20 Substanzen quantitativ bestimmt: Alanin, Arginin, Asparaginsäure, Cysteinsäure, Cystin, Glutamin, Glycin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Methionin, Orthin, Phenylalanin, Serin, Threonin, Tyrosin und Valin, ferner Harnstoff und Taurin. Abb.4 zeigt ein solches Chromatogramm.

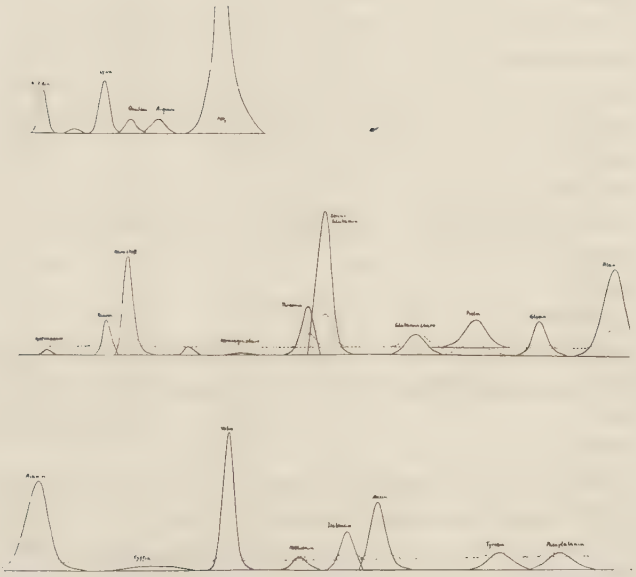

ABBILDUNG 3

Chromatogramm der freien Aminosäuren von 10 ml enteiweissten Blutplasma Die basischen Aminosäuren wurden in einer 50 cm langen mit Amberlite IRC 50 gefüllten Säule getrennt. Zur Trennung der anderen Substanzen diente eine 130 cm lange mit Dowex 50 x 8 gefüllte Säule. (Korrektur: Der Gipfel der α-Aminobuttersäure wurde irrtümlich mit Cystin beschriftet.)

TABELLE 5

Mengen von 21 freien Aminosäuren, Taurin und Harnstoff in µgr/ml im Blutplasma von 20 stoffwechselgesunden Versuchspersonen

	Mittelwert ±	Extremwerte
α-ABS	1,8 ± 1,8	0,4 - 5,2
Alanin	19,1 ± 6,6	9,3 - 30,0
Arginin	6,6 ± 2,2	3,8 - 10,9
Cysteinsäure	5,2 ± 5,2	1,4 - 14,9
Cystin	5,8 ± 2,4	3,8 - 8,6
Glutamin	(55,5 ± 28,1)	(21,3 - 121,5)
Glutaminsäure	8,8 ± 3,7	3,4 - 16,9
Glycin	9,4 ± 2,7	3,8 - 14,2
Harnstoff	281,2 ± 98,0	190,7 - 580,0
Histidin	10,7 ± 2,9	5,3 - 14,4
Isoleucin	6,9 ± 1,8	4,8 - 11,4
Leucin	13,7 ± 3,0	8,9 - 20,6
Lysin Ornithin	12,4 ± 4,4	6,1 - 20,2
Methionin	2,9 ± 1,7	1,0 - 6,9
Phenylalanin	7,5 ± 1,8	4,8 - 11,6
Prolin	17,6 ± 3,5	13,5 - 26,1
Serin	6,6 ± 1,9	4,4 - 10,5
Taurin	6,0 ± 1,9	3,4 - 10,7
Threonin	10,1 ± 2,8	6,8 - 16,0
Tyrosin	7,2 ± 2,0	3,4 - 10,9
Valin	19,4 ± 5,4	10,8 - 34,2
Gesamt-Amino-N	32,3 ± 6,5	20,4 - 43,3

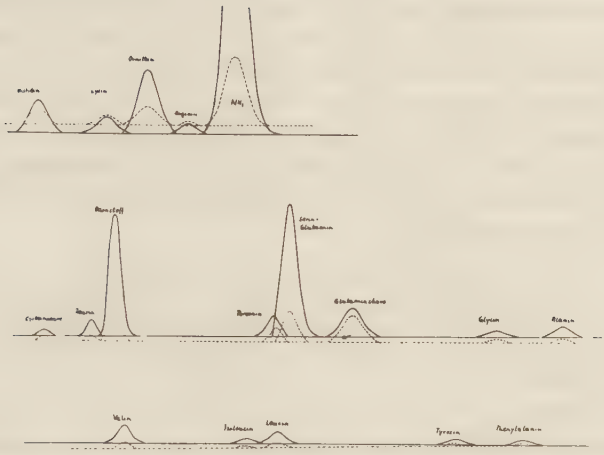

ABBILDUNG 4

Chromatogramm der freien Aminosäuren von 20 ml enteiweisstem Liquor
Die Trennung der Substanzen wie bei Abb.3 (Die Ornithinzacke ist ungewöhnlich hoch. Kein Normalfall!)

Die chromatographische Trennung der beiden basischen Aminosäuren Lysin und Ornithin war bei den meisten Liquores ungenügend, da der anfänglich zur Basentrennung verwendete Ionenaustascher Dowex 50 x 8 an der kleinen Basensäule keine ausreichende Trennung der beiden homologen Substanzen ermöglichte. Der später in der 50 cm langen Basensäule verwendete Austauscher Amberlite ICR 50 ergab meist eine gute Trennung beider Aminosäuren. Da wir hier jedoch nur über wenige Fälle verfügten, haben wir in Tabelle 6 nur einen gemeinsamen Wert für Lysin und Ornithin angegeben. Für Asparaginsäure besitzen wir aus technischen Gründen nur von 7 Personen exakte Werte. Auf die Angaben einer Standardabweichung haben wir daher hier verzichtet.

Cystin war meist nur als sehr schwache Kurve zu erkennen: wir fanden jedoch stets eine grössere Menge Cysteinsäure. Da wir diese für ein in vitro aus Cystin entstandenes Kunstprodukt halten, haben wir den Cysteinsäurewert in Cystin umgerechnet und geben in unserer Tabelle lediglich einen Wert für diese Aminosäuren an. In Tabelle 6 sind in der linken Spalte die ermittelten Werte für die 20 Personen mit normalem Liquorbefund zusammengefasst. Die Standardabweichung der Aminosäurewerte ist auch bei dieser "Normalgruppe" ziemlich gross und ent-

spricht etwa derjenigen, die vom Blutplasma bei Mensch und Ratte bekannt ist (27, 31).

Bei den 10 Patienten mit pathologischem Liquorbefund -bei üblichen klinischen Liquoruntersuchungen- fanden wir praktisch die gleichen Aminosäurewerte wie bei Personen mit sonst normalem Liquor. Die Gegenüberstellung (Tab. 6) beider Gruppen ergibt für keine Aminosäure einen signifikanten Unterschied. Auch die Aufschlüsselung nach Diagnosen zeigte im Einzelfall bei den von uns untersuchten Fällen keine charakteristischen und für ein bestimmtes Krankheitsbild typischen Veränderungen. In Tab. 7 sind die Werte für die freien Aminosäuren des Blutplasmas sowie der Quotient: Mittelwert der Plasmakonzentration durch Mittelwert der Liquorkonzentration angeführt.

Liquorbefund	normal	pathologisch
Substanz	Mittelwert $\pm\sigma$	Mittelwert $\pm\sigma$
Alanin	2,3 ± 0,71	2,3 ± 0,57
Arginin	4,7 ± 1,05	6,2 ± 2,2
Asparaginsäure	0,8	1,2
Cystin	1,1 ± 0,36	0,8 ± 0,24
Glutamin	49,7 ± 29,55	52,3 ± 41,9
Glutaminsäure	8,4 ± 4,18	9,6 ± 4,1
Glycin	0,7 ± 0,17	0,7 ± 0,24
Harnstoff	174,6 ± 50,86	197,5 ± 62,4
Histidin	2,3 ± 0,49	4,3 ± 1,46
Isoleucin	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,26
Leucin	1,5 ± 0,37	1,8 ± 0,48
Lysin/Ornithin	4,9 ± 1,3	4,8 ± 1,6
Methionin	0,7 ± 0,14	0,7 ± 0,17
Phenylalanin	1,5 ± 0,42	1,5 ± 0,54
Serin		2,1
Taurin	1,2 ± 0,28	1,2 ± 0,27
Threonin	3,1 ± 0,68	3,3 ± 0,53
Tyrosin	1,5 ± 0,35	1,5 ± 0,45
Valin	1,7 ± 0,4	1,9 ± 0,5
Gesamt-Amino-N ..	14,1 ± 5,71	10,0 ± 4,32

TABELLE 6

Mittelwert in µgr/ml und Standardabweichung verschiedener freier Liquoraminosäuren bei Personen mit normalem und pathologischem Liquorbefund bei üblicher klinischer Liquoruntersuchung (Zellzahl, Gesamteiweiss, Mastixkurve usw.). Der Gesamt-Amino-N wurde durch Addition des Aminostickstoffs aller Einzelaminosäuren errechnet.

Substanz	Liquor Mittelwert ± σ	Plasma Mittelwert ± σ	Quotient Plasma/Liquor
Alanin	2,3 ± 0,71	19,1 ± 6,6	8,3
Arginin	4,7 ± 1,05	6,6 ± 2,2	1,4
Asparaginsäure	0,8	1,5	2,0
Cystin	1,1 ± 0,36	9,4 ± 3,7	8,5
Glutamin	49,7 ± 29,55	55,5 ± 28,1	1,1
Glutaminsäure	8,4 ± 4,18	8,8 ± 3,7	1,1
Glycin	0,7 ± 0,17	9,4 ± 2,7	13,4
Harnstoff	174,6 ± 50,86	281,2 ± 98,0	1,6
Histidin	2,3 ± 0,49	10,7 ± 2,9	4,7
Isoleucin	0,7 ± 0,2	6,9 ± 1,8	9,9
Leucin	1,5 ± 0,37	13,7 ± 3,0	9,2
Lysin/Ornithin	4,9 ± 1,3	12,4 ± 4,4	2,5
Methionin	0,7 ± 0,14	2,9 ± 1,7	4,2
Phenylalanin	1,5 ± 0,42	7,5 ± 1,8	5,0
Serin		6,6 ± 1,9	3,1
Taurin	1,2 ± 0,28	6,0 ± 1,9	5,0
Threonin	3,1 ± 0,68	10,1 ± 2,8	3,3
Tyrosin	1,5 ± 0,35	7,2 ± 2,0	4,8
Valin	1,7 ± 0,4	19,4 ± 5,4	11,4
Gesamt-Amino-N	14,1 ± 5,71	32,3 ± 6,5	2,3

TABELLE 7

Mittelwert und Standardabweichung verschiedener Aminosäuren im Liquor (Spalte 1) und im Plasma (Spalte 2) normaler Versuchspersonen bei üblichen klinischen Untersuchungen. In Spalte 3 findet sich der Quotient aus der Aminosäurekonzentration im Plasma und im Liquor (Mittelwerte).

Dieser Quotient schwankt von 1,1 für Glutamin und Glutaminsäure bis zu 13,4 für Glycin. Dadurch ergibt sich für den Liquor ein ganz anderes Aminosäurespektrum als für das Plasma. Der Vergleich zweidimensionaler Elektropherochromatogramme von Liquor- und Plasmaaminosäuren (27) machte dies bereits deutlich. Einen genaueren Überblick erhält man, wenn man die Einzelaminosäuren als Prozent des aus den Molmengen sämtlicher Aminosäuren additiv errechneten Gesamt-Aminostickstoffes ausdrückt. Abb.5 zeigt dies in graphischer Darstellung.

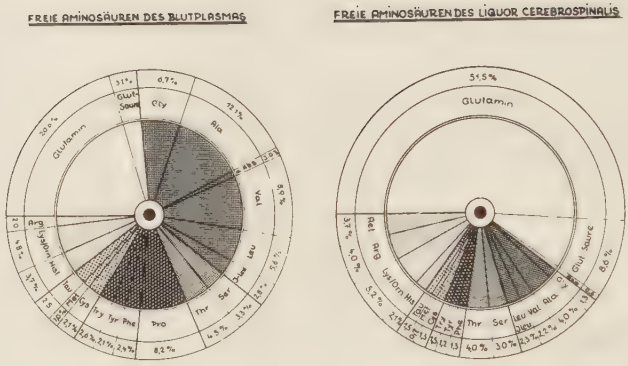

ABBILDUNG 5

Schematische Darstellung des Spektrums der freien Aminosäuren von Blutplasma und Liquor.

Die Einzelnen Aminosäuregruppen sind als verschieden getönte Kreissektoren dargestellt. Die Zahlen bedeuten den Anteil der jeweiligen Aminosäure in Prozent des als 100 gesetzten, rechnerisch ermittelten Gesamt-Aminostickstoffes.

Zur Klärung der Frage, wie weit sich die aus der Gegenüberstellung der Mittelwerte verschiedener Patientenkollektive gewonnenen Relation im Einzelfall verschieben, wurden bei 14 Patienten simultane Untersuchungen von Plasma und Liquor durchgeführt. In Tab.8 sind die ermittelten Werte zusammengefasst. Bei einem Patienten (S.G.) wurde im Abstand von 2 Monaten eine Doppelbestimmung durchgeführt. Wir haben auf die Widergabe der Absolutwerte verzichtet und nur die daraus ermittelten Relationen angegeben, da die Absolutwerte im Einzelfall keinen zusätzlichen Gesichtspunkt erbrachten.

Die Mittelwerte aus den Relationszahlen stimmen gut mit den Werten überein, die wir als Quotient aus den mittleren Absolutwerten sämtlicher untersuchten Plasmen und Liquores erhalten haben. Im Einzelfall kann die Relation jedoch ziemlich starken Schwankungen unterliegen. Der Maximalwert der Blut-Liquorrelation liegt um das 2-7-fache über dem Minimalwert. Auch hier verhalten sich die einzelnen Aminosäuren verschieden. Bei manchen scheint die Liquorkonzentration in einer festen Beziehung zur Plasmakonzentration zu stehen, bei anderen besteht wahrschein

lich kein Zusammenhang. Die grösste Streuung der Relation fanden wir für Glutaminsäure, die geringste für Valin. Bei dem Patienten, der zweimal untersucht wurde, lagen beide Werte, ausser beim Harnstoff, ziemlich nahe beieinander.

IV. DISKUSSION

Wir haben zunächst die Verwendbarkeit unserer Methode zur Bestimmung der freien Aminosäuren in Blut- und Liquor geprüft. Dabei bestach die Genauigkeit, die für die Reproduzierbarkeit der Analysen angegeben wird. MOORE, STEIN und SPACKMANN (40,54) berichten über eine Fehlerbreite von durchschnittlich 2 %, HANNIG (11) erreichte 2-5 %, unterschiedlich je nach Aminosäure und Auftragsmenge. Wir haben uns eng an die Methode von HANNIG gehalten und konnten die gleiche Genauigkeit erzielen, jedoch nur mit reinen Testaminosäuren. Beim Vergleich der von uns ermittelten Fehlerbreite mit den Angaben von HANNIG ist jedoch zu berücksichtigen, dass wir in Tabelle 3 die maximale Abweichung vom Mittelwert, HANNIG (11) dagegen den mittleren Fehler einer Reihenbestimmung angibt. Letzterer ist auch bei uns geringer. Bei der Untersuchung physiologischer Flüssigkeiten treten erheblich grössere Schwierigkeiten auf, die die Fehlerbreite vor allem für einige nur in relativ geringer Konzentration vorhandener Aminosäuren etwas erhöhen.

Die geeignetste Aminosäuremenge für ein Chromatogramm beträgt nach SPACKMANN, STEIN und MOORE (54) sowie nach HANNIG (11) etwa 2 mg. Das entspricht etwa dem Gehalt an freien Aminosäuren von 10 ml Blutplasma. Bei dieser auch nach unserer Erfahrung günstigen Ausgangsmenge lassen sich die Kurven von 17 neutralen und sauren Aminosäuren von Harnstoff und Taurin auswerten. Man braucht jedoch weitere 5-10 ml Plasma für die Chromatographie der basischen Aminosäuren und des Ammoniaks. Die für eine vollständige Analyse benötigte Nativ-Blutmenge beträgt also 40 ml. Wegen der grösseren Genauigkeit gingen wir, soweit es möglich war, sogar von 50 ml Nativ-Blut aus. Dies bedeutet eine Einschränkung, vor allem bei solchen Fragestellungen, die mehrfache Bestimmungen an dem selben Patienten, oder Blutentnahmen aus schwer zugänglichen Gefässen wie Bulbus jugularis oder Coronarsinus erfordern. Stand uns weniger Blut zur Verfügung, dann mussten wir uns mit einer Auftragsmenge von 0,5 ml für die sauren und neutralen und 0,5 ml für die basischen Aminosäuren begnügen. Geringere Plasmamengen hatten ein Ansteigen der Fehlergrenze zur Folge, da manche Aminosäuren dann kaum noch als deutliche Gipfel erkennbar sind. Erst die Entwicklung anders dimensionierter und auch für Mikrobestimmungen geeigneter Geräte würde diese Schwierigkeiten beheben.

Der geringe Aminosäuregehalt im Liquor erfordert eine Mindestmenge von 30-40 ml pro Analyse. Selbst dann fallen die Kurven der meisten Aminosäuren noch sehr klein aus, und die Fehlerbreite liegt höher als bei anderen Untersuchungsgut.

Sie beträgt im Durchschnitt 10 %. Da derartige Liquormengen im allgemeinen nur bei Luftencephalographien anfallen, dürfte das Verfahren für diagnostische Zwekke von geringer Bedeutung bleiben. Das ungünstigere Verhältnis von Aminosäuren zu Salzen lässt dazu die Kurven von nicht entsalzten Liquores stets etwas weniger genau ausfallen, als diejenigen des Blutplasmas.

Die vergleichende Untersuchung von Lumbal-, Cisternen- und Ventrikelliquor ist nicht möglich, da die zur Analyse benötigte Liquormenge stets auch bei lumbaler Entnahme Beimengungen aus Cisternen oder Hirnventrikeln enthält. Konzentrationsunterschiede sind jedoch wahrscheinlich, da die freien Aminosäuren sich in ihrem Verhalten nicht grundsätzlich von anderen Liquorbestandteilen wie Zuckern oder Eiweissen (8, 9, 64, 69) unterscheiden dürften.

Schliesslich muss noch auf einige weitere Mängel der Methode hingewiesen werden. Gerade einige der physiologisch interessantesten Aminosäuren lassen sich nur sehr schwer trennen. Beim Arbeiten mit Dowex 50 x 8 ist vor allem die Trennung zwischen Glutamin und Serin unbefriedigend. Asparagin lässt sich von Glutamin und Serin überhaupt nicht trennen. Diese Schwierigkeiten sind insbesondere im Hinblick auf das Glutamin bedauerlich, da diese Substanz schon rein mengenmässig eine der wichtigsten des Körpers ist. Durch Verwendung anderer Pufferlösungen lassen sich zwar auch diese Substanzen von einander trennen, man muss dann aber Überschneidungen bei einer ganzen Gruppe anderer Aminosäuren in Kauf nehmen.

Ein noch nicht restlos gelöstes Problem ist auch die Trennung der basischen Aminosäuren. Nach der Originalmethode von MOORE, SPACKMANN und STEIN (40) wird für die Analyse von physiologischen Flüssigkeiten eine 50 cm lange Säule und der gleiche Ionenaustauscher wie für die Trennung der neutralen Aminosäuren (Dowex 50 x 8 oder Amberlite IR 120) verwendet. Dabei dehnt sich die Elutionszeit jedoch auf 20 Stunden aus. Dies bedeutet, dass man mit einem Gerät nur an jedem 2. Tag eine vollständige Analyse durchführen kann. Ausserdem sind die Kurven breit, die Trennung ist oft ungenügend. 15 cm lange Säulen haben sich bei der Trennung von Eiweisshydrolysaten sehr gut bewährt. Beim Arbeiten mit biologischen Flüssigkeiten befriedigen sie wegen der schlechten Trennung von Lysin und Ornithin weniger.

Die Verwendung des Austauschers Amberlite IRC 50 und einer 50 cm langen, 6 mm weiten Säule nach HANNIG (11) reduziert die Elutionsdauer auf 4 Stunden. Diese Säule ist jedoch wegen der feinkörnigen Füllung besonders empfindlich gegenüber Verunreinigungen, die trotz der Ätherausschüttelung immer noch, wenn auch in geringerem Masse, durch Lipoide auftreten. Wir erreichten mit diesem Verfahren eine Trennung von Histidin, Lysin Arginin, Ornithin und Ammoniak. Die für die klinische Fragestellung höchst wichtige gleichzeitige Bestimmung von Ammoniak ist prinzipiell möglich, wird in biologischen Flüssigkeiten jedoch durch die gleichzeitige Gegenwart von Glutamin erschwert, das bei der Basentrennung an Amberlite IRC 50 dieselbe Wanderungsgeschwindigkeit hat. Bei der Trennung der neu-

tralen Substanzen an Amberlite IR 120 oder von Dowex 50 x 8 erscheint der NH_3-Gipfel erst sehr spät und in Form einer ziemlich breitbasigen Kurve.

Unsere Plasmawerte unterschieden sich gering von denen, die KNAUFF und DIETERLE (27) mit Hilfe der quantitativen Papierchromatographie gefunden haben. Sie liegen einheitlich etwas niedriger. Zum Teil beruht sich dies wohl auf dem anderen Arbeitsverfahren. Die im Vergleich zu den papierchromatographischen Werten etwas höhere Schwankungsbreite liegt kaum an methodischen Mängeln. Unsere Untersuchungen umfassen ein wesentlich grösseres Patientenkollektiv. Die Werte von KNAUFF und DIETERLE wurden ferner an völlig gesunden, meist jugendlichen Versuchspersonen gewonnen (Studenten, Laborpersonal, Patienten mit lediglich funktionellen Störungen).

Im Liquor konnten wir insgesamt 20 verschiedene Substanzen quantitativ bestimmen. Die Analyse von γ-Aminobuttersäure und Tryptophan, die früher auf zweidimensionalen Elektrophero-Chromatogrämmen quantitativ nachgewiesen wurden (28), war mit der verwendeten Technik nicht möglich. Diese Stoffe werden am verwendeten Austauscher zerstört oder sind schlecht von anderen Stoffen abzutrennen. Andere, wie Prolin, liegen in zu geringer Konzentration vor, um sie berechnen zu können. Auch ein Teil vom Glutamin wird am Austauscher zerstört. Die Verlustquote war jedoch nicht einheitlich, obwohl die Einhaltung gleicher Versuchsbedingungen durch die Apparatur in hohem Masse gewährleistet wurde. Sie schwankte bei Versuchen mit Reinsubstanzen von 5-20 %. Unsere im Liquor und Plasma gefundenen Glutaminwerte streuen daher stärker als die sämtlicher anderer Aminosäuren (Tab. 4 und 6). Da jedoch alle unsere Werte auf reine, eingewogene und auf gleiche Weise chromatographierte Testaminosäuren bezogen wurden, die sich diesem Prozess gegenüber genauso verhalten, wird sich nur die Streubreite, nicht jedoch der Mittelwert verändern. In der Grössenordnung geben unsere Bestimmungen daher sicher die wahren Glutaminwerte an. Auch unsere Streubreite ist nicht allein methodisch bedingt. Sie geht selbst bei Berücksichtigung der grösseren methodischen Fehlerbreite wesentlich über die Streuung der anderen Aminosäuren hinaus und muss daher hauptsächlich durch individuelle Schwankungen im Glutamingehalt erklärt werden.

Die bisherigen Literaturangaben (Tab. 1) für Glutamin im Liquor weichen je nach verwendeter Technik beträchtlich von einander ab. Der Unterschied zwischen den Angaben einiger Autoren, die Glutamin papierchromatographisch (35, 36, 44) gemeinsam mit den anderen Aminosäuren bestimmten, und den chemisch analytisch gewonnenen Werten (10, 13, 37, 70) beträgt fast 2 Zehnerpotenzen (Mittelwert von Logothetis (35) 3 µgr/ml, Mittelwert von GILON (10) 220 µgr/ml) und ist uns kaum verständlich. Wir glaubten zunächst es müsse sich um einen Kommafehler bei der Berechnung handeln, wenn aber man die papierchromatographisch bestimmten Werte der in Tab. 1 zusammengefassten Autoren im Einzelnen vergleicht, stellt sich heraus, dass ihre Glutaminwerte in derselben Grössenordnung liegen, wie

die Werte der anderen Liquoraminosäuren. Dies ist jedoch sicher nicht der Fall. Bei uns übertreffen die Glutaminwerte die Werte der anderen Aminosäuren um das 10-50-fache. Auch auf früheren zweidimensionalen Elektrophero-Chromatogrammen vom Liquor übertraf der Glutaminfleck die Flecken aller anderen Aminosäuren weit an Intensität und Grösse und beherrschte das ganze Bild (28). Unsere Werte stimmen aber sehr gut mit den chemisch bestimmten Glutaminwerten der Literatur, nicht jedoch mit papierchromatographischen Werten überein. Unsere mit der gleichen elutionschromatographischen Methode im Blutplasma bestimmten Glutaminwerte liegen übrigens im selben Bereich wie die des Liquores und stimmen recht gut mit eigenen, papierchromatographisch ermittelten Werten (27), sowie mit denen anderer Autoren überein (12,39).

Die ziemlich grosse Streubreite unserer "Normalgruppe" (Fall 1-20) ist als physiologisch zu betrachten und entspricht dem Verhalten anderer niedermolekulater Liquorbestandteile. Ähnliche Schwankungsbreiten werden für gewisse Zucker 3,19 u.a.) für Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin (7,47), Cholesterin, die verschiedensten Lipide (62), Neuraminsäure (3) und eine Reihe anderer Stoffe angegeben.

Diese Schwankungsbreite erklärt wahrscheinlich auch das Fehlen signifikanter Unterschiede zwischen pathologischen Liquores und Normalfällen. Die Aminosäuren werden als Grundbausteine von gesunden und kranken Zellen in ähnlicher Weise benötigt oder freigesetzt. Da bei den meisten neurologischen Krankheitsbildern nur eine relativ kleine Zahl aller Nervenzellen geschädigt ist, würden diese die Aminosäure-Zusammensetzung des mit allen Gehirnteilen kommunizierenden Liquores in der Regel kaum über die grosse physiologische Schwankungsbreite hinaus verändern.

Die Konzentration aller Liquor-Aminosäuren mit Ausnahme von Glutamin und Glutaminsäure liegt erheblich unter der des Plasmas. Ihre individuelle Streubreite entspricht etwa derjenigen der Plasmaaminosäuren. Im Liquor stellt der aus der Addition der Einzelaminosäuren errechnete Gesamtaminostickstoff, wie auch im Plasma, die konstanteste Grösse dar, vor allem, wenn man die grössere Schwankung des Glutamingehaltes im Liquor nicht mit berücksichtigt.

Das Verhältnis der Konzentration im Plasma zu der im Liquor zeigt für die einzelnen Aminosäuren charakteristische Unterschiede. Während Glutaminsäure und Glutamin im Liquor in gleicher Konzentration vorhanden sind wie im Plasma, und auch Arginin und Harnstoff im Liquor in nur etwas geringerer Menge vorliegen. als im Plasma, kommt Valin im Blut in der 11-fachen, Glycin sogar in der 13-fachen Konzentration vor. Die einzelnen Stoffe ordnen sich in folgender Reihe: Glutamin, Glutaminsäure, Arginin und Harnstoffe haben eine Relationszahl unter 2, Lysin, Ornithin, Threonin und Serin liegen unter 4, Methionin, Histidin und Tyrosin, Phenylalanin und Taurin liegen unter 6, Alanin, Cystin, Leucin, Isoleucin, Valin und Glycin liegen darüber. Da Glutamin und Glutaminsäure die Hauptmenge der freien Liquoraminosäuren ausmachen, liegt die Verhältniszahl für den Gesamt-Aminostickstoff bei 2,3.

Die in der Literatur häufig zitierte Angabe, dass die Aminosäurekonzentration des Liquores in Fünftel derjenigen des Blutes betrage, bedarf also einer Korrektur. Sie dürfte hauptsächlich auf den sehr niedrigen, papierchromatographisch ermittelten und unserer Ansicht nach irrtümlichen Glutaminwerten verschiedener Voruntersucher beruhen.

Nach den Verhältniszahlen lässt sich einmal eine Gruppe einfacher gebauter aliphatischer Aminosäuren abgrenzen, wie Valin, Glycin, Alanin, Cystin, Isoleucin. Diese bestreiten die Hauptmenge aller Proteinaminosäuren, haben jedoch wohl kaum wesentliche Eigenfunktionen als freie Aminosäuren. Da der Anteil an Proteinen insbesondere Gerüsteiweissen in der Hirnsubstanz wesentlich geringer ist als in anderen Organen, treten sie auch im Gehirn und damit ebenfalls im Liquor zurück.

Im Gegensatz dazu haben Glutamin und Glutaminsäure schon als freie Aminosäuren im Hirnstoffwechsel wesentliche Funktionen zu erfüllen und machen demgemäss die Hauptmenge der freien Gehirnaminosäuren aus. Ihre hohe Konzentration auch im Liquor ist daher verständlich. Auch die Asparaginsäure liegt trotz ihres niedrigen Absolutwertes gegenüber dem Plasma in auffallend hoher Konzentration vor.

SOLOMON und Mitarbeiter (53) wiesen bereits auf diese Tatsache hin. Sehr niedrige Verhältniszahlen und damit eine relativ hohe Liquorkonzentration zeigen auch die basischen Aminosäuren Arginin, Lysin und Ornithin. Das kongruente Verhalten dieser Basen mit Glutamin, Glutaminsäure und Asparaginsäure ist sehr interessant, da beide Aminosäuregruppen der Ammoniakentgiftung dienen (32, 45, 48, 49). Von SPORN, DINGMANN und DEFALCO (55) konnte kürzlich gezeigt werden, dass auch die Gehirnzelle über die früher nur der Leber zugeschriebene Fähigkeit (38) zur Harnstoffbildung verfügt.

Ob aus der hohen Konzentration der dazu benötigten freien Aminosäuren im Liquor auch auf eine hohe Aktivität der NH_3-entgiftenden Mechanismen geschlossen werden kann, möchten wir jedoch unentschieden lassen. Der Liquor kann nämlich nicht mit dem Zentralnervensystem gleichgesetzt werden. Während Glutamin und Glutaminsäure auch in der Hirnsubstanz in excessiv hoher Menge vorkommen, trifft dies für die Basen nicht zu. Es kann daher sein, dass hier lediglich physikalische Eigenschaften, wie die basische Natur dieser Stoffe ihren leichten Übertritt aus den Gehirnzellen in die Extracellularflüssigkeit und damit in den Liquor ermöglichen.

Die Aminosäuren, deren Relationszahlen in der Mitte zwischen den beiden Extremen der einfachen aliphatischen Aminosäuren liegen, tragen alle besondere funktionelle Gruppen. Es sind einmal Serin und Threonin, ferner Histidin, Methionin, Phenylalanin und Tyrosin. Dass gerade diese, ganz besonderen Stoffwechselfunktionen dienenden Aminosäuren im Liquor prozentual in viel grösserer Menge vorkommen als im Blutplasma, ist sicher kein Zufall.

Unsere Simultanbestimmungen in Plasma und Liquor zeigten erhebliche Schwankungen der Liquor-Plasmarelation. Jedoch verhalten sich auch hierin die einzelnen Aminosäuren recht unterschiedlich. Eine Beziehung zwischen den im Einzelfall erheblichen Abweichungen der Relationszahlen vom Mittelwert und dem sonstigen Liquorbefund oder der Diagnose ergab sich nicht. Wir glauben auch nicht, dass dies bei einem wesentlich grösseren Material der Fall gewesen wäre. Die grösste Streuung der Relationszahl zeigte die Glutaminsäure. Ein festes Verhältnis der Liquorkonzentration zu der des Plasmas ist bei dieser in grosser Menge im Hirngewebe vorkommenden Aminosäure kaum anzunehmen. Sie scheint vielmehr hauptsächlich auf direktem Wege aus der Hirnsubstanz in den Liquor zu gelangen. Allerdings können auch Stoffe, für die diese schwerlich zutreffen dürfte, wie etwa Bilirubin, stark wechselnde Liquorrelationen zeigen (34, 45).

Die im Gehirn als freie Aminosäuren nur in geringer Menge vorkommenden Stoffe Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Tyrosin und Valin zeigen die konstantesten Beziehungen zwischen Plasma- und Liquorkonzentration. Bei ihnen ist eine Abhängigkeit der Liquorkonzentration von der des Plasmas eher wahrscheinlich, wenn auch nicht das strenge Verhältnis besteht wie etwa bei der Glukose (21, 69). Endgültig wird die Frage nur durch Simultanbestimmungen in Blut und Liquor vor und nach Aminosäureinfusionen zu entscheiden sein. Diese sollten durch genaue pH-Messungen in Blut und Liquor ergänzt werden. Die Blut-Liquor-Relation ist bei schwachen, nur teilweise ionisierten Basen und Säuren nämlich in hohem Masse pH-abhängig. Allein durch Änderung des pH-Gradienten zwischen Blut und Liquor konnten für zahlreiche Substanzen eine Änderung der Relationszahlen erreicht werden (33, 56, 57, 65, 68). Möglicherweise trifft dies auch für freie Aminosäuren zu.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Das Verfahren der Elutionschromatographie an Ionenaustauschersäulen mit automatischer Registrierung der Ergebnisse wurde auf seine Verwendbarkeit zur Bestimmung der freien Aminosäuren in biologischen Flüssigkeiten geprüft. Es erwies sich als die zur Zeit genaueste Methode zur quantitativen Aminosäureanalyse. Auf besondere Schwierigkeiten bei der Analyse von biologischem Material wird hingewiesen.

2. Bei 20 stoffwechselgesunden Versuchspersonen wurden 20 freie Aminosäuren, sowie Taurin und Harnstoff im Plasma bestimmt. Bei 30 Patienten mit verschiedenen neurologischen Erkrankungen wurden im Liquor cerebrospinalis 18 freie Aminosäuren Taurin und Harnstoff quantitativ bestimmt. Bei 14 Versuchspersonen wurden Liquor und Blut simultan entnommen und untersucht.

3. Das Spektrum der freien Aminosäuren im Liquor unterscheidet sich grundlegend von dem des Blutplasmas. Der Quotient zwischen Plasma und Liquorkonzentration schwankt zwischen 1,1 für Glutaminsäure und Glutamin bis zu 13,4 für Glycin. Für den Gesamt-Aminostickstoff ergab sich ein Quotient von 2,3. Die unterschiedlichen Relationszahlen erlauben gewisse Rückschlüsse auf Herkunft und Bedeutung der einzelnen Liquoraminosäuren.

4. Die individuelle Streubreite der Relationszahlen wurde durch Simultanbestimmung in Liquor und Plasma ermittelt. Auch hier verhalten sich die einzelnen Substanzen verschieden. Die grössten Schwankungen zeigten die Aminosäuren, die im Gehirn selbst in grosser Menge vorkommen.

5. Die Aminosäurekonzentration im Liquor liess keine Beziehung zur klinischen Diagnose, zum sonstigen Liquorbefund oder zum Alter und Geschlecht der untersuchten Patienten erkennen. Ihre Quantitative Bestimmung ist als diagnostisches Verfahren nicht geeignet.

Autor	Solomon (53)	Torre (61)	Kemali (26)	Logothetis (35)	Walker (67)	Huisman (17)	Logothetis (36)	Müting (44)
Jahr	1947	1953	1954	1955	1955	1955	1958	1959
Methode	M	P	P	P	P	E	P	P
Zahl d. Fälle	26	7		17	26	6	52	25
	Mittelw. ± σ	Mittelw.	Mittelwert	Mittelw. ± σ	Mittelw. ± σ	Mittelw.	Mittelw. ± σ	Mittelw. ± σ
α-ABS	-	-	-	0,2 ± 0,2	-	-	0,2 ± 0,1	Spuren
γ-ABS	-	-	-	0,2 ± 0,1	-	-	0,4 ± 0,2	Spuren
Ala	-	0,8	8,4	1,8 ± 0,7	1,0 ± 0,7	1,5	1,5 ± 0,6	3,4 ± 1,0
Arg	6,0 ± 1,4	0,5	-	1,2 ± 0,7	-	1,0	1,6 ± 1,0	6,0 ± 1,4
Asp	-	-	-	1,5 ± 0,9	0,4 ± 0,1	0,1	1,1 ± 0,6	1,3 ± 0,3
Cys	1,8 ± 0,5	2,1	-	-	-	0,5	-	2,4 ± 0,9
Glu-NH_2	-	10,4	12,2	3,0 ± 1,2	7,1 ± 5,0	3,5	3,0 ± 1,0	4,5 ± 1,8
Glu	-		-	1,4 ± 0,6		-	0,9 ± 0,7	2,7 ± 1,3
Gly	-	1,1	4,8	1,4 ± 0,4	1,0 ± 0,5	1,0	0,9 ± 0,4	3,9 ± 1,7
His	1,7 ± 0,5	2,2	-	-	-	0,5	-	2,6 ± 0,8
Ileu	1,0 ± 0,5	-	-	-	-	-	-	1,2 ± 0,3
Leu	1,4 ± 0,2	1,1	2,4	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,9	0,5	1,4 ± 0,9	2,3 ± 0,5
Lys	2,8 ± 0,8	-	-	1,9 ± 1,2	-	2,0	1,7 ± 1,0	3,6 ± 1,5
Met	0,4 ± 0,1	-	-	-	-	0,5	-	1,3 ± 0,3
Phe	1,9 ± 0,7	0,9	1,8	1,8 ± 0,2	2,1 ± 4,1	1,5	1,8 ± 1,1	1,9 ± 0,6
Pro	-	-	-	-	-	-	-	2,7 ± 0,8
Ser	-	-	-	2,5 ± 0,8	1,6 ± 0,7	1,0	2,2 ± 1,0	2,8 ± 1,1
Tau	-	-	-	-	-	-	-	3,2 ± 1,2
Thr	2,8 ± 0,9	-	-	1,4 ± 0,9	1,3 ± 0,7	3,0	1,2 ± 0,5	1,8 ± 0,6
Try	-	2,6	-	-	-	-	-	2,0 ± 0,6
Tyr	2,0 ± 0,7	1,1	2,2	0,8 ± 0,5	0,8 ± 0,3	1,0	1,6 ± 1,0	1,8 ± 0,6
Val	2,1 ± 0,5	1,4	3,6	1,0 ± 0,6	0,7 ± 0,5	1,5	1,2 ± 0,5	3,6 ± 1,1

Tab. 1:

Freie Aminosäuren im Liquor cerebrospinalis gesunder Menschen in /ugr/ml. ABS = Aminobuttersäure.

M = mikrobiologisch
P = papierchromatographisch
E = elutionschromatographisch bestimmte Werte

Tab. 2: Übersicht über die wichtigsten Bestimmungen der freien Plasmaaminosäuren in µg/ml
M=mikrobiologische Bestimmung / P=Papierchromatographie
S=Ionenaustauschersäulenchromatographie

Autor	Jahr	Methode	Zahl d. Fälle	Alanin	α-ABS	Arginin	Asparagin	Asparaginsäure	Cystin-Cystein	Glutamin	Glutaminsäure	Glycin	Histidin
Hier (14)	1946	M	8	–	–	23 14 – 37	–	–	–	–	–	–	14 11–21
Sheffner (52)	1948	M	2	–	–	16,5–17,2	–	–	–	–	–	–	14,1–17,0
Steele (58)	1950	M	4	42	–	28	–	8	–	–	44	11	21
Hofstatter (16)	1950	M	23	–	–	–	–	–	–	–	–	12,6 8,7–18,6	13,5 10,2–17,7
Schreier (51)	1950	M	11	–	–	25,0 19,5–32,6	–	–	19,8 11,5–21,8	–	–	28,0	15,9 11,5–19,8
Johnson (20)	1951	M	24	–	–	16,2 10,0–27,0	–	–	14,7 8,2–20,0	–	–	–	13,8 9,5–19,0
Bordan (4)	1952	M	9	–	–	15,0	–	–	–	–	–	–	14,2
Waismann (66)	1952	M	10	–	–	10,4	–	–	–	–	–	–	10,9
Harper (12)	1953	M	13	39,6 24 – 76	–	22,6 12 – 30	–	3,3 0– 12	30,2 18 – 50	75,1 46 –106	8,9 0 –13	29,1 8 – 54	21,1 10 – 38
Stein (59)	1954	S	5	34,1 3,0 30,1–37,3 2,2–3,5		15,1 12,2–19,3	5,8 5,4–6,5	3,0 1,0–7,0	11,8 10,8–12,5	–	7,0 4,3–12,0	15,4 13,4–17,3	11,5 7,9–15,8
Huismann (18)	1954	M	2	–	–	14,0 8,5 – 20,0	–	2,0 1,5–2,5	–	–	8,8 7,0–12,0	16,0 14,0–18,0	27,0 24,0–29,0
McMenamy (39)	1957	P	15	28,5 2,3 17,8–40,1 1,3–3,0		11,9 8,6–17,6	–	–	–	64,0 45,0–111,0	2,95 0,0–3,7	17,7 10,5–21,8	13,7 9,3–17,0
Kelley (22)	1957	P	16	21 15–26	–	17 13–21	62 45–90	–	–	–	7 4–10	–	–
Christensen (5)	1957	S	3	21,0 2,6 18,7–23,5 1,6–3,6		10,5 7,7–12,5	27,9 22,6–34,6	1,4	–	–	5,2 4,0–6,3	11,9 21,0–43,8	10,8 9,1–13,0
Miting (43)	1958	P	30	33 28–41	–	14 9–22	–	10 6–15	10 8–12	–	24 11 –38	13 5–20	19 13 – 31
Knauff Dieterle (27)	1959	P	16	26,2 15,8–32,9	2,55 1.29–3,87	11,5 7,1–21,2	nicht nachweisbar	Spuren	11,1 7,2–19,8	69,9 51,4–91,0	5,2 3,5–7,2	12,5 2,6–15,1	9,6 5,7–13,5

Autor	Isoleucin	Leucin	Lysin	Methionin	Ornithin	Phenylalanin	Prolin	Serin	Taurin	Threonin	Tryptophan	Tyrosin	Valin
Hier (14)	17 12–23	20 16–28	30 20–37	–	–	14 9–21	–	–	–	21 13 – 32	–	–	29 25–37
Sheffner (52)	18,0	25,0	20,8–24,7	3,2–4,5	–	–	–	–	–	20,8–21,6	–	–	22,3–26,7
Steele (58)	18	24	37	9	–	19	28	–	–	31	17	13	34
Hofstatter (16)	13,6 10,5–16,5	19,1 12,3–23,1	28,9 18,3–40,2	–	–		–	–	–	18,5 12,0–27,4	11,7 6,9 –15,0	13,9 10,5–19,5	29,2 19,5–34,8
Schreier (51)	15,2 10,3–22,6	20,3 16,8–24,7	28,3 21,0–34,2	2,9 1,5–5,1	–	15,6 12,7–17,3	–	11,6 9,8–16,0	–	20,7 16,1–25,8	10,0 7,4–14,0	14,3 10,6–17,3	30,5 24,6–36,5
Johnson (20)	13,4 11,0–20,0	18,6 15,0–23,0	21,9 13,0–30,0	5,2 3,6–6,6	–	9,9 7,3–13,0	–	–	–	16,7 12,0–22,0	12,7 7,1–17,0	10,4 6,2–14,0	27,2 22,0–34,0
Bordan (4)	–	–	26,1	–	–	10,9	29,4	–	–	13,4	–	9,8	–
Waismann (66)	7,1	15,1	24,1	3,6	–	7,1	–	–	–	14,1	7,8	9,1	23,7
Harper (12)	20,0 12–42	24,8 10–52	36,8 23– 58	5,7 2,5–10	–	19,9 11–40	26,1 15–57	13,9 3–20	–	20,6 9 – 36	17,4 9 – 30	13,2 9 – 24	32,0 23 – 42
Stein (59)	8,9 0,9–12,8	16,9 14,2–23,0	27,2 25,1–30,2	3,8 3,5–4,3	7,2 6,2–8,0	8,4 6,9–9,5	23,6 18,4–33,3	11,2 10,1–12,5	5,5 4,1–8,2	15,0 12,1–17,2	–	10,3 8,1–14,5	28,8 23,7–37,1
Huismann (18)	7,1 4,2–10,0	16,5 7,8–24,0	14,0 12,0–17,0	4,2 2,0–6,4	–	8,6 6,6–10,0	15,0 13,0–18,0	–	–	9,8 7,5–11,0	–	–	25,0 20 – 30
McMenamy (39)	6,55 4,0–10,4	10,4 6,6–14,1	20,9 15,4–27,8	4,2 1,5–5,7	7,7 6,1–9,9	9,2 5,5–12,4	16,4 11,5–20,8	8,9	1,2 0,0–2,5	16,1 11,9–20,4	4,3 2,5–5,3	12,7 8,5–16,3	14,9 9,5–18,8
Kelley (22)	–	–	–	–	–	8 6–10	17 11 – 30	10 7 – 13	–	12 9 – 18	6 4 – 12	11 8 – 15	19 13 – 33
Christensen (5)	7,4 6,8–7,9	13,2 10,7–14,6	3,4 3,1–3,7	20,4 17,5–21,6	–	7,9 7,7–8,0	20,1 19,6–20,6	15,4 13,9–17,2	5,2 3,9–7,2	15,7 12,7–18,5	–	7,7 7,1–8,6	–
Miting (43)	7 5–10	25 10–42	19 9–30	8 5–11	–	14 8–24	20 13–29	21 15–28	–	11 6–16	15 10–35	11 7 – 21	32 26 – 42
Knauff Dieterle (27)	9,1 4,15–17,4	17,1 14,3–25,0	10,8 7,4–15,5	3,8 2,8–5,18	2,7 1,5–5,2	8,8 6,4–10,8	19,2 15,7–26,2	8,5 7,8–12,2	3,7–7,25	14,1 1,0–17,0	10,1 6,5–15,1	11,3 8,25–17,0	21,2 15,8–25,2

Nr.	Name	Alter	Geschlecht	Diagnose	Zellzahl	Liquorbefund Pandy	Kafka	Mastix	Luftencephalogramm	EEG
1.	B.E.	23	W.	Psychogene Anfälle	2/3	1. opal 1,2 = 28,8 mg %		normal	normal	normal
2.	B.G.	28	W.	Hirnembolie bei Endocarditis	6/3	1. opal 1,1 = 26,4 mg %		normal	-	-
3.	C.W.	57	W.	Olivo-ponto-cerebellare Heredodegeneration bei gleichzeitigem Epipharynxtumor	2/3	1. opal 1,0 = 24,0 mg %		normal	Hydrocephalus	normal
4.	E.H.	39	M.	Einmaliger cerebraler Anfall mit Bewußtseinsstörung (exog. Intoxikation ?)	1/3	1. opal 1,0 = 24,0 mg %		normal	normal	normal
5.	G.M.	51	W.	Menière - Syndrom	11/3	opal 1,0 = 24,0 mg %		normal	normal	-
6.	H.P.	22	M.	Neurotische Raktion	5/3	1. opal 0,7 = 16,8 mg %		normal	normal	normal
7.	H.H.	61	M.	Posttraumatisches-symptom. cerebrales Anfallsleiden	3/3	1. opal 1,0 = 24,0 mg %		normal	-	-
8.	K.A.	53	M.	Org. Psycho-Syndrom mit Angiopathie-Syndrom, Thyreotoxikose	4/3	opal 1,0 = 24,0 mg %		normal	Hydrocephalus	-
9.	K.H.	23	M.	Cerebrale Anfälle nach Meningitis tuberculosa	4/3	Subopal 0,9 = 21,6 mg %		-	normal	normal
10.	L.A.	58	M.	Cerebrales Anfallsleiden unklarer Genese, essent. Hypertonie	4/3	1. opal 0,7 = 16,8 mg %		normal	path.	labil
11.	O.G.	33	M.	Menière-Syndrom	12/3	1. opal 1,0 = 24,0 mg %		normal	normal	normal
12.	S.G.	60	M.	Narkolepsie, org. Psycho-Syndrom bei Gehirntumor	10/3	Subopal 1,0 = 24,0 mg %		normal	path.	-
13.	S.M.	50	W.	Cerebralsklerose, Pseudobulbärparalyse, Hirnatrophie (cerebrale Zirkulationsgrössen vermindert)	0/3	opal 0,9 = 21,6 mg %		normal	Hydrocephalus	-
14.	V.N.	35	W.	Cerebrale Anfälle	2/3	opal 0,9 = 21,6 mg %		normal	-	path.
15.	W.J.	64	M.	Hirnorganisches Psycho-Syndrom essentieller Hypertonus	12/3	1.opal 0,8 = 19,2 mg %		normal	Hydrocephalus	labil
16.	W.E.	44	W.	Zustand nach fraglichem Gefäßprozeß, vegat. Labilität	12/3	opal 0,9 = 21,6 mg %		normal	normal	sehr labil
17.	M.B.	29	W.	Endogene Fettsucht, leichter Diabetes Mellitus	7/3	opal 1,1 = 26,4 mg %		normal	normal	-
18.	W.J.	46	W.	Hirntumor	3/3	-	-	-	-	-
19.	B.M.	18	M.	Cerebr. Anfallsleiden unklarer Genese	12/3	opal 0,9 = 21,6 mg %		normal	normal	normal
20.	B.E.	40	W.	Anfallsleiden unklarer Genese	4/3	opal 1,1 = 26,4 mg %		normal	normal	labil
21.	A.J.	22	M.	Genuine Epilepsie	12/3	st.opal 1,5 = 36,0 mg %		Linkszacke	normal	normal
22.	B.S.	50	M.	Chronische Arachnitis, cerebrale Anfälle, cerebraler Gefäßprozeß nach Hirnoperation.	9/3	Trübung 1,5 = 36,0 mg %		tief li. gelag.	Hydrocephalus	labil
23.	K.H.	40	M.	Jackson-Anfälle m. Kopfschuß	31/3	st.opal 1,7 = 40,8 mg %		Linkszacke	Hydrocephalus	-
24.	L.M.	24	W.	Jackson-Epilepsie	18/3	1. opal 1,8 = 43,2 mg %		normal	normal	path.
25.	K.P.	23	M.	Genuine Epilepsie	14/3	opal 1,1 = 26,4 mg %		normal	-	-
26.	O.P.	24	W.	Spastische Spinalparalyse	18,3	1. opal 0,8 = 16,8 mg %		normal	normal	-
27.	P.J.	19	M.	Multiple Sklerose	32/3	- 1,1 = 26,4 mg %		Linkszacke	-	-
28.	S.U.	20	W.	Genuine Epilepsie	33/3	opal 1,5 = 36,0 mg %		normal	normal	normal
29.	U.K.	45	M.	Epilepsie, leichte Diabetes	24/3	opal 1,0 = 24,0 mg %		normal	Hydrocephalus	normal
30.	W.B.	50	M.	Hirntumor	12/3	1. opal 1,3 = 31,2 mg %		Linkszacke	path.	path.

Tab. 4: Übersicht über Alter, Geschlecht, klinische Diagnose, Liquorbefund, Luftencephalogramm und EEG der Patienten, deren Liquor untersucht wurde.

Aminosäure	S.G. I	S.G. II	B.E.	B.G.	C.W.	G.M.	K.A.	K.H.	O.G.	W.E.	M.E.	L.M.	K.P.	O.P.	U.K.	Mittelw. ±	Max. Wert	Min. Wert
Alanin	9,4	10,5	8,0	6,9	15,0	6,6	9,3	6.3	16,7	4,6	7,2	7,4	10,9	10,8	8,8	9,9±3,3	16,7	4,6
Glutamin	1,9	1,2	1,5	1,1	2,4	0,7	1,2	1,0	0,8	0,9	1,1	2,5	–	2,1	1,4	1,4±0,6	2,5	0,7
Glutamins.	0,9	0,7	1,8	0,5	3,5	1,0	1,0	0,5	1,1	0,8	1,0	0,6	0,9	0,8	0,8	1,1±0,8	3,5	0,5
Glycin	12,8	9,0	16,3	11,2	36,9	7,6	13,2	16,8	16,6	13,9	15,3	14,1	14,5	19,4	39,5	16,7±9,2	39,5	7,6
Harnstoff	1,4	0,5	2,4	0,8	1,5	1,1	1,3	1,2	1,8	2,0	1,3	1,3	1,2	1,3	1,4	1,4±0,4	2,4	0,5
Hystidin	–	–	–	–	6,3	–	–	2,3	5,5	5,0	–	–	1,5	–	–	4,1±2,1	6,3	1,5
Isoleucin	10,3	9,7	10,4	7,3	9,4	7,7	13,5	8,8	9,6	4,8	14,4	12,7	8,5	10,0	13,0	10,0±2,6	14,4	4,8
Leucin	9,4	8,3	9,0	6,4	10,0	8,5	13,0	8,7	9,8	5,2	13,8	11,5	8,9	8,8	10,1	9,4±2,2	13,8	5,2
Lys/Orn	2,3	–	–	1,6	4,4	2,0	–	1,8	2,0	2,0	1,2	3,3	2,9	4,3	1,6	2,5±1,0	4,4	1,6
Methionin	3,6	3,5	3,1	3,4	5,6	–	3,2	–	–	1,7	10,2	9,6	–	4,9	–	4,9±2,8	10,2	1,7
Phenylal.	5,0	5,0	5,3	4,7	4,0	4,8	6,8	–	4,1	4,3	7,5	5,5	7,0	7,6	9,4	5,8±1,6	9,4	4,0
Serin	1,9	3,4	2,9	2,6	6,0	2,7	3,1	2,2	3,7	3,0	4,3	2,3	–	3,8	2,5	3,1±1,1	6,0	1,9
Taurin	6,0	5,0	4,6	2,1	5,0	4,5	5,8	3,0	6,9	7,1	5,0	3,0	5,2	5,5	8,6	4,5±1,7	8,6	2,1
Threonin	1,9	3,2	3,0	2,6	6,0	2,7	3,0	2,2	3,7	3,0	4,3	2,0	–	3,8	2,5	3,1±1,1	6,0	1,9
Tyrosin	4,2	3,3	4,2	4,2	4,4	3,3	5,7	3,3	5,9	4,1	6,4	6,0	2,6	7,6	6,5	4,8±1,5	7,6	2,6
Valin	10,7	10,2	7,0	8,0	11,6	10,8	13,8	10,0	14,5	16,2	15,0	10,9	12,6	14,4	9,4	11,7±2,7	16,2	7,0

Tab. 8: Quotient aus Plasmakonzentration durch Liquorkonzentration verschiedener Aminosäuren bei 14 Patienten. Die Diagnosen und Liquorbefunde dieser Patienten finden sich in Tabelle 5. Der Patient S.G. wurde 2 mal im Abstand von 2 Monaten untersucht.

Für die Überlassung des Themas und die liebenswürdige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit möchte ich Herrn Dr. H. G. Knauff herzlich danken.

Mein Dank gilt auch Frau Grehn und Herrn Husch, die mir als technische Assistenten bei den Versuchen halfen und sich sehr hilfsbereit zeigten.

LITERATURVERZEICHNIS

1) ASTRUP, T., A.STAGE and E.OLSEN:
A desalting apparatus for amino acids. Acta chem.scan. (Kopenh.). 5, 1343, (1951)

2) BAUER, H. und P.BOESCHE:
Die freien Aminosäuren des Liquors bei der multiplen Sklerose. Klin.Woschr. 35, 511, 1957

3) BOGOSCH, S.:
Fractionation and quantitative analysis of cerebrospinal fluid constituents with reference to neuropsychiatric disorders. Am.J.Phsychiatr. 114, 1028, 1958

4) BORDEN, A.L., E.C.BRODIE, E.B.WALLRAFF, W.P.HOLBROCK, D.F.WILL, C.A.L.STEPHENS, R.B.JOHNSON and A.KEMMERER:
J.clin.Invest. 31, 375, 1952

5) CHRISTENSEN, P.J., J.W.DATE, F.SCHONHEYDER and K.VOLQUARTZ:
Amino acids in blood plasma and urine during pregnancy. Scand.J.clin.labor. Invest. 9, 54, 1957

6) CONSDEN, R.A.H., CORDON and A.J.P.MARTIN:
The identification of lower peptides in cimplex mixtures. Biochem.J. 41, 590, (1947)

7) CRONE, C.:
Uric acid in the cerebrospinal fluid. Dan.Med.Bull. 4, 22, 1957

8) DAVSON, H.:
Physiology of the ocular and cerebrospinal fluids. London, Churchill 1956

9) FISHMAN, R.A., J.RANSCHOFF and E.F.OSSERMANN:
Factors influencing the concentration gradient of protein in cerebrospinal fluid. I.clin.Invest. 37, 1419, 1958

10) GILON, E., A.SZEINBERG, G.TAUMAN and BODONYI:
Glutamine estimation in cerebrospinal fluid in cases of liver cirrhosis and hepatic soma. J.labor.clin.Med. 53, 714, 1959

11) HANNIG, K.:
Erfahrung mit der quantitativen Aminosäurenbestimmung an Ionenaustauschersäulen und automatischer Registrierung der Ergebnisse. Clin.chem.Acta 4, 51, 1959

12) HARPER, H.A., M.E.HUTCHIN and J.R.KIMMEL:
Concentrations of mineteen amino acids in plasma and urine of fasting normal males. Proc.Soc.exp.Biol.Med. 80, 768, 1953

13) HARRIS, M.M., R.T.ROTH and B.S.HARRIS:
Studies regarding a glutamin-like substance in blood and spinal fluid, including a methode for its quantitative determination. J.Clin.Invest. 22, 569, (1943)

14) HIER, S.W. and O.BERGEIM:
The microbiological determination of certain free amino acids in human and dog plasma. J.biol.Chem. 163, 129, 1946

15) HINSBERG, K. und W.GEINITZ:
Der Liquor cerebrospinalis. In Hoppe-Seyler/Thierfelders Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 10.Auflage, S.321, Berlin-Göttingen-Heidelgerg: Springer 1953.

16) HOFSTATTER, L., P.G.ACKERMANN and W.B.KOUNTZ:
The plasma levels of nine free amino acids in old men and women. J.lab. clin.Med. 36, 259, 1950

17) HUISMAN, T.H.J.:
ONDERSOCK naar bet gehalte van vershillende Aminosuren van de Liquor cerebrospinalis. Nederl.Tijdschr., Geneeskunde, 99, 3357, 1955

18) HUISMAN, T.H.J.:
Rediatrics 14, 245, 1954

19) JANIK F.:
Liquorzuckerbefunde bei Kaninchen, Klin.Woschr. 14, 1077, (1935)

20) JOHNSON, C.A. and O.BERGEIM:
The distribution of free amino acids between erythrocytes and plasma. J.biol. Chem. 188, 833, 1951

21) KATZENELBOGEN, S.:
The cerebrospinal fluid and its relation to the blood. John Hopkins Press Baltimore, 1935.

22) KELLEY, J.J. and H.A.WAISMAN:
Quantitative plasma amino acid values in leucemic blood. Blood J.Haematol. 12, 635, 1957.

23) KEMALI D.e., G.PORCELLATI:
Chromatografie degli amino-acidi liberi nel liquor umano normali. Boll.Soc. italbiol.sper. 28, 1275, 1952

24) KEMALI, D.e., G.PORCELLATI:
Accorgimenti di taenica per dossagio quantitative degli amino-acidi liberi nel liquido cefalo-rachidiano. Boll.Soc.ital.biol.sper. 28, 1277, 1952

25) KEMALI, D.e., G.PORCELLATI:
Prizi dossagi nel liquor degli amino-acidi liberi rilevati con la ripartizone oromatografica. Boll.Soc.ital.biol.sper. 28, 1280, 1952

26) KEMALI, D.e., G.PORCELLATI:
Precisazioni in tema die cromatografia degli amino-acidi liberi nel liquido cefalo-rachidiano. Boll.Soc.ital.biol.sper. 29, 1182, 1953

27) KNAUFF, H.G., P.DIETERLE und ZICKGRAF:
Quantitative Bestimmung von 21 freien Plasma-Aminosäuren bei gesunden Versuchspersonen. Hoppe-Seylers Z.f.physiol.Chem. 316, 186, 1959

28) KNAUFF, H.G., W.MIALKOWSKY und H.ZICKGRAF:
Über die Bestimmung der freien Aminosäuren des Liquor cerebrospinalis und ihre Bedeutung für die Klinik. Z.Klin.Med. 155, 483, 1959

29) KNAUFF, H.G. und P.SCHABERT:
Zur quantitativen Aminosäurebestimmung in Körperflüssigkeiten und Organextrakten nach Elutionschromatographie an Ionenaustauschersäulen mit automatischer Registrierung der Ergebnisse. Klin.Woschr. 38, 812, 1960

30) KNAUFF, H.G., P.SCHABERT und H.ZICKGRAF:
Die Konzentration der freien Aminosäuren im Liquor cerebrospinalis und ihre Beziehung zur Konzentration der freien Plasmaaminosäuren. Klin.Woschr. 39, 778, 1961

31) KNAUFF, H.G. und F.WINDSHEIMER:
Das Verhalten von Gesamtaminostickstoff und 21 freien Plasmaaminosäuren bei der experimentellen Leberschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff. Naunyn-Schmiedebergs Arch.f.exp.Path.u.Pharmakol. 239, 442, 1960.

32) KREBS, H.A. und K.HENSELEIT:
Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. Hoppe-Seylers Z. physiol.Chem. 210, 33, 1932

33) LAWRENCE, W. jr., J.A.JAQUENS, S.G.DIENST, J.W.POPPEL, H.T.RANDALL and K.G.ROBERTS:
The effect of changes in blood pH on the plasma total ammonia level. Surgery 42, 50, 1957

34) LEE, T. and B.Y.Y.HSIA:
Experimental studies on blood-spinal fluid barrier for bilirubin. J.lab.clin. Med. 54, 512, 1959

35) LOGOTHETIS, J.:
A study of free amino acids in the human cerebrospinal fluid. Neurology (Minneapolis) 5, 767, 1955

36) LOGOTHERIS, J.:
The free amino acid content of cerebrospinal fluid in humans and dogs. Neurology 8, 299, 1958

37) LUDEWIG, S.:
Glutamine, Glutamic acid and -aminobutyric acid in cerebrospinal fluid. A. M.A.Arch.Neurol.Psychiat. 70, 268, 1952

38) MANN, F.C.:
The effect of complete and of partial removal of the liver. Medicin (Baltimore) 6, 419, (1927)

39) McMENAMY, R.H., C.C.LUND and J.L.ONCLEY:
Unbound amino acid concentrations in human blood plasma. J.clin.Invest. 36, 1672, 1957

40) MOORE, S., D.H.SPACKMANN and W.H.STEIN:
Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. An improved system. Analyt.Chem. 30, 1185, 1958.

41) MOORE, S. and W.H.STEIN:
Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins, J.biol.Chem. 192, 663,(1951).

42) MOORE, S. and W.H.STEIN:
Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four percent cross-linked sulfonated polystyrene resins. J.biol.Chem. 211, 1954 a.

43) MÜTING, D.:
Der Aminosäuregehalt des Menschen. Arzneimittel.Forsch. 8.Beiheft, 79, 1958

44) MÜTING, D. und K.N.SHIVARAS:
Quantitative papierchromatographische Bestimmung der freien Aminosäuren in Liquor cerebrospinalis gesunder Menschen. Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 317, 34, 1959.

45) NASRALLA, M., E.GAWRONSKA and D.Y.Y.HSIA:
Studies on the relation between serum and spinal fluid bilirubin during early infancy. J.clin.Invest. 37, 1403, 1958.

46) NATHAN, D.G. and K.S.WARREN:
A colorimentrie method for the messurement of the brain ammonia of the mouse; The effect of glutamine on the total messurable ammonia. Arch. Biochem.Biophys. 81, 377, 1959.

47) PRAETORIUS, E., H.POULSEN and H.DUPONT:
Uric acid, xanthine and hypoxanthine in the cerebrospinal fluid. Scand.J.clin. lab.Invest. 9, 133, 1957

48) RATNER, S.:
Some aspects of nitrogen transfer in biosynthetic mechanisme. In "Essays in Biochemistry". p.216, Edit.by S.Graff, New York. Wiley, 1956.

49) RICHTER, D. and R.M.C.DAWSON:
The ammonia and glutamine content of the brain. J.biol.Chem. 176, 1199, 1948.

50) SCHÖNENBERG, H.:
Papierchromatographische Liquoruntersuchungen (II.Mitteilung). Die Papierchromatographie der Aminosäuren des Liquors bei zentralnervösen entzündlichen Erkrankungen. Z.Kinderheilk. 75, 301, 1954.

51) SCHREIER, K. und H.PLÜCKTHUN:
Untersuchungen über den Gehalt an freien Aminosäuren in Serum und Urin. Biochem.Z. 320, 447, 1950

52) SHEFFNER A.L., J.B.KIRSNER and W.L.PALMER:
Studies of amino acid excreation in man. I.Amino acids in urine, J.biol. Chem. 175, 107, 1948

53) SOLOMON,J.D., S.W.HIER and O.BERGEIM:
Free amino acids in cerebrospinal fluid. J.biol.Chem. 171, 695, 1947.

54) SPACKMANN, D.H., W.H.STEIN and S.MOORE:
Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. Analyt.Chem. 30, 1190, 1958.

55) SPORN, M.B., W.DINGMAN, A.DEFALCO and R.K.DAVIES:
Formation of urea from arginine in the brain of the living rat. Natur (London) 183, 1520, 1959.

56) STABENAU, J.E., D.P.RALL, J.GASKINS and C.G.ZUBROD:
Effect of pH on transfer of drugs from blood to cerebrospinal fluid. J.Pharmacol.exp.Therap. 72, 122, 1958.

57) STABENAU J.R., K.S.WARREN and D.P.RALL:
The role of pH gradient in the distrubtion of ammonia between blood and cerebrospinal fluid, brain and muscle. J.clin.Invest. 38, 373, 1959.

58) STEELE, B.F., M.S.REYNOLDS and C.A.BAUMANN:
Amino acids in the blood and urine of human subjects ingesting different amounts of the same proteins. J.of.Nutrition (Philadelphia) 40, 145, 1950.

59) STEIN, W.H. and S.MOORE:
Electrolytic desalting of amino acids: Conversion of arginine to ornithine. J.biol.Chem. 190, 103, 1951.

61) TORRE, M., T. SCARZELLA e. A. ZANALDA:
Ricerta cromatographica con dati quantitativi degli aminoacidi liberi del liquor di soggeti normali. Boll. Soc. ital. biol. sper. 29, 196, (1953)

62) TOURTELOTTE, W.W., R.N. DE JONG and W.H. van HOUTEN:
A study of lipids in the cerebrospinal fluid. I. Historical asprects. University of Michigan, Medical Bull. (Ann. Arbor, Mich.) 24, 66, 1958.

63) UZMAN, L.L., E.A. BERING jr. and C.E. MORRIS:
The neuraminic acid content of cerebrospinal fluid as affected by neurological diseases. J. clin. Invest. 38, 1756, 1959.

64) UZMAN, L.L. and M.K. RUMPLEY:
Neuraminic acid as a constituent of human cerebrospinal fluid. Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.) 93, 497, 1956.

65) WADDEL, M.J. and T.C. BUTLER:
The distribution and excereton of phenobarbital. J. clin. Invest. 36, 1217, 1957.

66) WAISMAN, H.A., R.A. PASTEL and H.G. POUCHER:
Pediatrics 10, 653, 1952.

67) WALKER, B.S., N.C. TELLES and E. PASTORE:
Amino acids of the cerebrospinal fluid. A.M.A. Arch. Neurol. Psychiatr. 73, 149, 1955

68) WARREN, K.S. and D.G. NATHAN:
The passage of ammonia across the blood-brain-barrier and its relation to blood pH. J. clin. Invest. 37, 1724, 1958.

69) WEISE, H.:
Über das Verhalten des Liquorzuckerspiegels bei Blutzucker-Belastungsproben. Ärztl. Woschr. 11, 1035, 1956.

70) WHITEHEAD, T.P. and S.R.F. WHITAKER:
A method for the determination of glutamine in cerebrospinal fluid and the results in hepatic coma. J. clin. Path. 8, 81, 1955.

LEBENSLAUF

Am 18. Mai 1935 wurde ich, Peter Schabert, als viertes von sieben Kindern des evangelisch-lutherischen Pfarrers Arnold Schabert und seiner Ehefrau Annemarie Schabert, geborene Oebius, zu Riga in Lettland geboren. Meine ersten vier Lebensjahre verbrachte ich dort. Im Rahmen der Rückführung aller Auslandsdeutschen in das Reich wurde unsere Familie im November 1939 nach Posen übersiedelt. Dort besuchte ich seit 1941 die Volksschule bis zur Flucht vor den heranrückenden russischen Truppen im Januar 1945. Über Berlin und Karlsbad gelangten wir nach Rosshaupten bei Füssen im Allgäu. Dort erlebten wir das Ende des Krieges. In Füssen besuchte ich die 1. Klasse der Oberrealschule bis zum Juli 1946. Damals wurde mein Vater als 3. Pfarrer an die Stadtkirche zu Bayreuth berufen. In Bayreuth trat ich in die 1. Klasse des humanistischen Gymnasiums ein und musste 1950 die 4. Klasse wiederholen. Die 5. Klasse besuchte ich als Heimschüler in Windsheim an der Aisch. Am 1. Mai 1952 wurde mein Vater als Oberkirchenrat und Kreisdekan des Kirchenkreises Oberbayern und Schwaben in den evangelischen Landeskirchenrat von Bayern nach München berufen. Hier trat ich zum Herbstschulanfang 1952 in die 6. Klasse des Wittelsbacher Gymnasiums ein und machte an dieser Schule im Sommer 1956 das Abitur. Im darauffolgenden Wintersemester begann ich das Medizinstudium an der hiesigen Universität. Die ärztliche Vorprüfung legte ich nach dem 5. Semester 1959 in München mit der Gesamtnote 1 = sehr gut ab ohne vorher die Hochschule gewechselt zu haben. Alle klinischen Semester war ich an der Universität München immatrikuliert. Meine Promotionsarbeit begann ich im Sommer 1959 und konnte sie im Sommer 1961 beenden.